ANALES

DE LA

SOCIEDAD CIENTIFICA

ARGENTINA

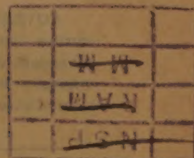
DIRECTOR: JOSE S. GANDOLFO

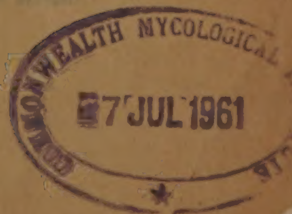
ENERO - FEBRERO 1961 — ENTREGAS I y II — TOMO CLXXI

SUMARIO

BUENOS AIRES
AVDA. SANTA FE 1145

1961





SOCIEDAD CIENTIFICA ARGENTINA

ADVERTENCIA. — Los colaboradores de los Anales son personalmente responsables de la tesis sustentada en sus escritos. Los que deseen tirada aparte de 50 ejemplares de sus artículos, deben solicitarla por escrito. **Art. 10 del Reglamento de los "ANALES"** (modificado por la J. D. en su sesión de fecha 4 de 2eptiembre de 1941). Los escritos originales destinados a la Dirección de los "Anales", serán remitidos a la Gerencia de la Sociedad, avenida Santa Fe 1145, a los efectos de registrar la fecha de entrega para luego enviarlos al señor Director.

Impreso en el Establecimiento Gráfico "TOMAS PALUMBO" - La Madrid 325 - Buenos Aires

ANALES

DE LA

SOCIEDAD CIENTIFICA

ARGENTINA

Director: JOSE S. GANDOLFO

TOMO CLXXI

BUENOS AIRES
Avda. Santa Fe 1145

1961

ESTUDIO DE LAS CONDICIONES DE ADSORCION DE VENENOS OFIDICOS Y SU APLICACION A LA INMUNIZACION EQUINA

POR

RODOLFO W. FERRARESI (*)

Instituto Nacional de Microbiología
(División Sueros)
(Av. Vélez Sarsfield 563, Buenos Aires, Argentina)

Resumen. — El propósito de este estudio es el de resolver inconvenientes ya clásicos en la preparación de sueros antiofídicos. Se ha tratado, por lo tanto, de obtener un antígeno de buena capacidad inmunizante, buscando, a la vez, reducir al mínimo los trastornos locales y generales del animal de preparación. Se ha procedido, primeramente, a un estudio físicoquímico complementario de las condiciones de adsorción del veneno; luego, a determinar la disminución de la letalidad causada por el veneno adsorbido; y, por fin, a estudiar el poder antigénico del veneno adsorbido, así como el esquema de inmunización apropiado.

Resumo. — Ĉi tiu verko celas solvi jam klasikajn malfacilaĵojn kiuj okazas dum la preparo de kontraŭserpentvenenaj seroj. Tial oni penis havigi bonan imunpovan antigenon serĉante minimumigi samtempe la lokajn kaj ĝeneralajn ĝenojn de la preparbesto. Do oni faris, unue komplementan fizikokemikan studon pri la adsorbaj kondiĉoj de la veneno; due, la esploron pri la malpliigo de la mortado kaŭzata de la adsorbita veneno; kaj, trie la studon pri la antigenpovo de la adsorbita veneno, kiel ankaŭ pri la taŭga imuneskemo.

TEMARIO

(*) En la iniciación de este trabajo intervino el Lic. A. Gellon. Agradezco al Lic. Luis M. Scavini su ayuda en las determinaciones de proteínas y concentración de hidróxico de aluminio, y al Dr. M. Valentinuzzi su colaboración en la elaboración de los datos fisicoquímicos y la estructuración del texto.

Agradezco al Dr. Ignacio Pirosky la ayuda orientadora dada en distintos momentos del trabajo y la posibilidad material de su realización en el Instituto.

I. INTRODUCCION

El propósito de este estudio es el de resolver inconvenientes ya clásicos en la preparación de sueros antiofídicos.

Sewall (1887), Calmette (1907) demostró, con veneno crotálico, que, aplicando pequeñas dosis a palomas, se podía llegar a administrarles una dosis equivalente a diez veces la dosis mortal. Phisalix y Bertrand (1894), con veneno de *Vípera*, y Calmette, con veneno de cobra, inmunizaron pequeños animales dándoles un sólido estado inmunitario transferible por el suero a otros animales. Estos antecedentes condujeron a Calmette a ensayar la inmunización antiofídica en animales grandes con el objeto de obtener un suero de valor terapéutico. En estos ensayos, este investigador encontró ciertos inconvenientes, como ser endocarditis, nefritis aguda y abscesos en el lugar de inyección del veneno. Algunas de éstas y otras complicaciones han sido observadas por nosotros: complicación séptica, a veces gangrenosa, del foco de inyección y muerte de los animales que responden insuficientemente al estímulo antigénico, hecho éste que nos obligaba a ser muy cautos en el incremento de las dosis, prolongándose, por lo tanto, el esquema de inmunización.

Ramón (1925) demostró que se puede obtener un aumento de antitoxina agregando al antígeno (toxinas diftérica y tetánica) substancias coadyudantes. M. A. Catan (1921) y A. Boquet (1928) comprobaron que el veneno de cobra se adsorbe sobre carbón animal y disminuye notablemente la letalidad. Además, A. Boquet verificó que el veneno adsorbido sobre carbón genera anticuerpos. Nicol y Richou (1935) demostraron que la mezcla de veneno de *Vípera aspis* y de cobra con lanolina permite inyectar al cobayo dosis superiores a las letales, fenómeno éste análogo al descripto por Frazer y Stewart (1940) para el caso del veneno de cobra disperso en una emulsión de aceite y agua. P. Boquet (1948)

menciona el hecho de que el veneno puede ser adsorbido también por caolín e hidróxido de aluminio, disminuyendo asimismo la letalidad.

Diversos autores (LÖWENSTEIN, 1909; VON EISLER y LÖWENSTEIN, 1912; GLENNY y SÜDMERSEN, 1921; RAMÓN, 1923), encontraron que la adición de formol a las toxinas produce una detoxificación con conservación de la capacidad antigénica. RAMÓN (1924) y ARTHUS (1930) vieron que dicho recurso es aplicable a los venenos ofídicos. Como resultado de esto, G. RAMÓN, P. BOQUET y L. NICOL (1940) prepararon con formol al 4-5 ‰, y manteniéndolo en estufa a 40°C, anaveneno de *Vipera aspis*, pudiendo luego usar este antígeno en dosis mayores, es decir, de 0,1 gr a 1 gr en un período de cuarenta días. Obtuvieron así un suero de valor terapéutico que, con métodos anteriores, hubiera requerido más de seis meses para ser preparado.

Según los datos recogidos por E. GRASSET (1955), en el South African Institute for Medical Research (Johannesburg, Sud Africa), se usa mezcla de anavenenos adsorbidos en bentonita; en el Commonwealth Laboratory (Australia) se emplea veneno precipitado con alumbre; el Wyeth Laboratory (Pensilvania, E. U.) utiliza un gel de aluminato y carbonato de aluminio como adsorbente de venenos previamente tratados con penicilina y estreptomicina; en el Instituto Niteroi (Brasil) se mezcla los venenos con una substancia lipoídica de origen hepático.

Nuestro objeto fué obtener un antígeno de buena capacidad inmunizante tratando, a la vez, de reducir al mínimo los trastornos locales y generales del animal de preparación. A fin de resolver estos problemas, hemos creído necesario proceder, primero, a un estudio fisicoquímico complementario de las condiciones de adsorción del veneno; en segundo lugar, determinar la disminución de la letalidad causada por el veneno adsorbido; y, en tercer lugar, estudiar el poder antigénico del veneno adsorbido, así como el esquema de inmunización apropiado. Oportunamente analizaremos las alternativas de las experiencias y las conclusiones.

II. ESTUDIO DE LA ADSORCION

Expondremos las nociones que hemos tenido en cuenta para realizar una serie de ensayos sobre algunos venenos ofídicos y des-

cribiremos, de modo general, la manera en que hemos procedido. Consignaremos luego en forma de tablas cada una de las experiencias en detalle.

1. *Nociones básicas.* — Nuestro propósito ha sido fijar el veneno sobre hidróxido de aluminio. Se trata, por lo tanto, de la adsorción de un coloide por otro coloide. Este fenómeno es bien conocido. Se lo puede describir cuantitativamente por la ley empírica de la isoterma de Freundlich o por la función de Langmuir, cuya obtención se funda en determinadas hipótesis. En ambos casos tenemos, una vez establecido el equilibrio, una relación entre cantidad x de substancia adsorbida y cantidad m de adsorbente como dependiente de la concentración c de estado de equilibrio, esto es:

$$\left.\begin{aligned} \frac{x}{m} &= KC^{\frac{1}{n}} \quad \text{(isoterma de Freundlich)} \\ \frac{x}{m} &= \frac{k_1 k_2 c}{1 + k_1 c} \quad \text{(función de Langmuir)} \end{aligned}\right\} \qquad (1)$$

Las constantes K, n carecen de significado físico, si bien hay estudios que han tratado de interpretarlas (Cassidy, 1951). Las constantes de la segunda expresión poseen un sentido bien definido: k_1 se refiere a la cantidad de adsorbible que saturaría un área unitaria del adsorbente con una película monomolecular; y k_2 traduce la capilaridad de la substancia adsorbida. Para mayores detalles sobre estos puntos remitimos a la correspondiente literatura (Langmuir, 1918; Aleixandre, 1950; Cassidy, 1951; Glasstone, 1952).

En nuestros ensayos nos hemos preocupado por determinar la relación x/m para una concentración C de equilibrio fija a diferentes *pH*.

Ocasionalmente hemos variado C.

2. *Material.* — Nos referiremos al material utilizado y a la manera de prepararlo.

a) *Preparación del gel de hidróxido de aluminio*: En la preparación del gel de hidróxido de aluminio, seguimos, con ligeras modificaciones, el método recomendado por la Organización Mundial de la Salud en Serie de Rapports Techniques, N.° 61, p. 68, 1953.

Se agrega agua recién destilada a 1.917 gramos de alumbre de amonio hasta obtener un volumen de 3,75 litros, se calienta la mezcla para disolver el alumbre hasta casi punto de ebullición y se deja enfriar lentamente para lograr la sobresaturación.

Simultáneamente se prepara en un recipiente de 25 litros, provisto de un agitador a movimiento lento, una solución de 550 gramos de sulfato de amonio en 15 litros de agua destilada. Se calienta a 64°C y se agrega rápidamente 2,5 litros de una solución de amoníaco al 10 % (en peso de amoníaco). La temperatura debe ser de 58°C. Se vierte entonces sobre la solución de alumbre de amonio quedando la temperatura a 61°C, se agita durante diez minutos, cuidándose que la temperatura no baje de 59°C.

Se procede al lavado del gel filtrándolo por algodón en filtro Buchner. Los primeros tres lavados se efectúan con agua destilada adicionada de amoníaco, y se lava otras tres veces con agua destilada sola.

El precipitado final se lleva a 35 litros, se fracciona y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 60 minutos.

b) *Determinación de la concentración de hidróxido de aluminio:* Se toma 10 ml de la solución a investigar, se filtra por papel Whatman, se coloca el papel con el precipitado en un crisol previamente tarado y luego se calcina en una mufla a 800°C hasta constancia de peso. Se halla la diferencia entre la pesada del crisol con el precipitado previo a la calcinación y la pesada después de haber sido efectuada ésta. Esa diferencia expresa el contenido en óxido de aluminio de la muestra original. Se calcula el porcentaje de óxido o de hidróxido de aluminio.

c) *Determinación de la capacidad de adsorción del hidróxido de aluminio:* WALDMAN (MANCUSO, 1952) ha preconizado un criterio para estimar el poder adsorbente del hidróxido de aluminio, que se basa en la fijación de rojo congo. Hemos utilizado este mismo colorante, pero en lugar de buscar la relación cuantitativa entre rojo congo e hidróxido de aluminio establecido por dicho autor, investigamos la curva de adsorción.

En una serie de tubos se coloca una cantidad constante de gel (de 2 a 20 mgr) y cantidades crecientes de una solución del colorante. Los cocientes $RC/(OH)_3Al$ varían de 1 a 10. Igualados los volúmenes en cada tubo, se controla el pH y la temperatura, y se

agita manualmente repetidas veces. Se centrifuga los tubos 20 minutos a 1500 r.p.m., se retira los sobrenadantes y se procede a su fotocolorimetría.

Con una solución de rojo congo conocida se hace diluciones y lecturas fotocolorimétricas con el objeto de establecer una curva que sirva de referencia para la determinación de la concentración de rojo congo en los sobrenadantes de las mezclas de colorante y gel.

De la comparación entre los resultados obtenidos con diversas partidas de hidróxido de aluminio, deducimos que es más adecuada aquélla cuya relación x/m es mayor para cualquier concentración C de equilibrio de rojo congo.

d) *Venenos:* Los venenos estudiados han sido los de víboras que crean el problema de ofidismo en la Argentina: *Crotalus terrificus, Bothrops alternata, Bothrops jararaca, Bothrops neuwiedii* y *Bothrops jararacusú.*

Se extrajo veneno de víboras de distintas regiones del país y en diferentes épocas del año. Se desecó las muestras al vacío con cloruro de calcio y se las conservó en estas condiciones en la obscuridad y a 4°C.*

La muestra de cada tipo de veneno era la mezcla de venenos obtenidos durante dos años, aproximadamente.

3. *Técnica.*

a) *Preparación de las soluciones de veneno:* Se efectúa la dilución del veneno con solución de cloruro de sodio al 0,9 %, centrifugándola luego durante 30 minutos a 2000 r.p.m. con el objeto de eliminar substancias insolubles. Se recoge el sobrenadante y se realiza: 1) determinación de nitrógeno proteico por semimicrométodo de Kjeldahl; 2) diluciones crecientes para evaluación fotocolorimétrica con reacciones de coloración (reactivos Fehling A y Fehling B) (Iovine y col., 1957).

En una serie de tubos se coloca cantidades constantes de $(OH)_3Al$ y de solución de veneno, fijándose el pH en cada tubo con NaOH 0,1 N o HCl 0,1 N, de modo que entre uno y otro tubo la diferencia sea de media unidad de la escala de pH. Agítase manualmente

(*) Estos venenos fueron preparados por el Dr. Avelino Barrios, jefe de la Sección Herpetología el Instituto.

repetidas veces, y se deja 30 minutos a temperatura ambiente; luego se centrifuga durante 20 minutos a 1500 r.p.m. Retirados los sobrenadantes, se efectúan las reacciones de coloración de proteínas con los reactivos Fehling para su evaluación fotocolorimétrica en base al nitrógeno ya determinado.

b) *Elaboración de los datos fotocolorimétricos:* Teniendo en cuenta el volumen total de la solución, el veneno se expresa como $q \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$ y el adsorbente como $m \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$. De la lectura fotocolorimétrica L hecha para el sobrenadante se deduce la cantidad de veneno remanente $q_L \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$. Por diferencia entre q y q_L obtenemos x, esto es:

$$x = (q - q_L) \left[\frac{\gamma}{\text{ml}}\right] \qquad (2)$$

Se calcula luego el cociente x/m.

Para cada serie medida realizamos la calibración del fotocolorímetro. Con este objeto, preparamos varios tubos con una cantidad conocida q_L de veneno (estimado en proteínas) en gammas por mililitro, en cada tubo practicamos las reacciones de coloración y procedemos a leer L. Hallamos la diferencia entre las L de dos tubos más o menos separados en la serie, así como la correspondiente diferencia Δq_L y calculamos el cociente $\Delta L/\Delta q_L$. Si L y q_L están linealmente relacionadas, debe ser:

$$L = \frac{\Delta L}{\Delta q_L} \cdot q_L \qquad (3)$$

Luego:

$$q_L = \frac{L}{\Delta L/\Delta q_L} \qquad (4)$$

Dentro de la precisión que pretendemos para nuestras medidas, la linealidad aproximada admitida en la expresión (3) es aceptablemente satisfactoria.

Los gráficos han sido hechos representando los pH como abscisas y los cocientes x/m como ordenadas.

TABLA I. — *Veneno de Crotalus terrificus*
(Curva *a* de la Fig. 1).

Volumen V = 20 *ml* $m = 1.100 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

Proteínas: $23.000 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

(*q* expresa la cantidad de veneno evaluada como proteínas).

Tubo	1	2	3	4	5	6
Solución de veneno	1,0 *ml* $q = 1150 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	1,5 *ml* $q = 1725$	2,0 *ml* $q = 2.300$	2,5 *ml* $q = 2.875$	3,0 ml $q = 3.450$	3,5 *ml* $q = 4.025$
$pH = 4,0$	—	$L = 140$ $q_L = 875 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$ $x = 850$ $\frac{x}{m} = 0,77$	—	—	—	—
$pH = 5,0$	—	$L = 60$ $q_L = 375$ $x = 1.350$ $\frac{x}{m} = 1,20$	—	—	—	—
$pH = 6,0$	—	$L = 50$ $q_L = 312$ $x = 1.413$ $\frac{x}{m} = 1,28$	—	—	—	—
$pH = 7,5$	$L = 27$ $q_L = 168$ $x = 982$ $\frac{x}{m} = 0,98$	$L = 42$ $q_L = 262$ $x = 1.463$ $\frac{x}{m} = 1,33$ $(pH = 7)$	$L = 35$ $q_L = 218$ $x = 2.082$ $\frac{x}{m} = 1,89$	$L = 42$ $q_L = 262$ $x = 2.613$ $\frac{x}{m} = 2,37$	$L = 85$ $q_L = 531$ $x = 2.919$ $\frac{x}{m} = 2,65$	$L = 125$ $q_L = 781$ $x = 3.244$ $\frac{x}{m} = 2,94$
$pH = 8,0$	—	$L = 34$ $q_L = 212$ $x = 1.513$ $\frac{x}{m} = 1,34$	—	—	—	—

Calibración

L	236	95	47	13
q_L	$1483 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$741 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$370 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$185 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

$\Delta L / \Delta q = 0,16$

4. *Resultados.* — En las Tablas I y II se consigna los datos numéricos obtenidos con veneno de *C. terrificus* y en las Tablas III, IV, V y VI están los datos correspondientes a *Bothrops*.

TABLA II. — *Veneno de Bothrops alternata.*

(Curva *b* de la Fig. 1)

Volumen V = 20 *ml*   Proteínas: 13.600 $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

Temperatura: 19°C

$q = 20.400 \left[\frac{\gamma}{20\ ml}\right] = 1020 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$ $m = 0,5 \left[\frac{mg}{ml}\right] = 500 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

pH	*L*	$q_L \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$x = (q - q_L)$ $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$\frac{x}{m}$
3,5	190	475	545	1,09
4,0	137	342	678	1,35
4,5	117	292	728	1,45
5,0	105	262	758	1,51
5,5	123	307	713	1,42
6,0	130	325	695	1,39
7,0	154	385	635	1,27

Calibración

L	470	235	125
q_L	1165 $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	582 $\frac{\gamma}{ml}$	291 $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

$\Delta L / \Delta q = 0,39$

En la Fig. 1 hemos reunido los gráficos construídos con los datos de las tablas.

En primer lugar observamos que la relación x/m, para *C. terrificus*, da dos curvas del mismo tipo, pero a niveles diferentes. Esto se explica por la distinta relación q/m inicial (Tabla I: $q/m = 1.725/$

Tabla III. — *Veneno de Bothrops neuwiedii*

(Curva *c* de la Fig. 1)

Volumen V = 20 *ml* Proteínas: 16.000 $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

Temperatura: 21°C $q = 1200 \left[\frac{\gamma}{ml}\right] m = 500 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

pH	L	$q_L \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$x = (q - q_L) \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$\frac{x}{m}$
4,0	185	476	724	1,4
4,5	158	415	785	1,5
5,0	140	358	842	1,6
5,5	138	353	847	1,6
6,0	135	346	854	1,7
6,5	150	384	816	1,6
7,0	155	397	803	1,5

Calibración

L	170	75	35
q_L	$457 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$228 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$114 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

$\Delta L/\Delta q_L = 0,39$

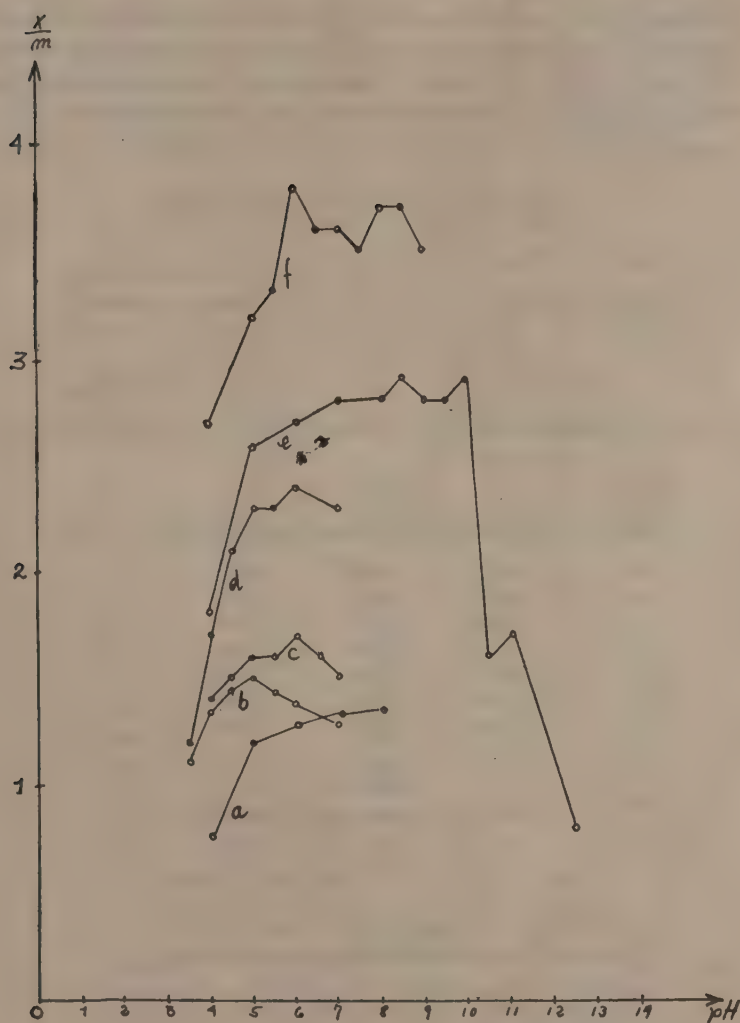


Fig. 1. — Adsorción de venenos ofídicos en nidróxido de aluminio a diferentes pH: a) *C. terrificus;* b) *B. alternata;* c) *B. neuwiedii;* d) *B. jararaca;* e) *C. terrificus;* f) *B. jaracusú* (Tablas I, II, III, IV, V, VI).

1.100 ≅ 1,7; Tabla II: q/m = 1.100/250 = 4,4; 4,4/1,7 ≅ 2,8; cocientes entre las ordenadas x/m de ambas curvas, aproximadamente 2). Vale decir, cada una de estas dos experiencias ha sido llevada a cabo en dos valores diferentes de la curva de adsorción. En ambos casos se ve, sin embargo, que la influencia del pH es análoga.

TABLA IV. — *Veneno de Bothrops jararaca.*

(Curva *d* de la Fig. 1.)

Volumen V = 20 *ml* Proteínas: 15.500 $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

$q = 775 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$ $m = 250 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

pH	*L*	$q_L \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$x = (q - q_L) \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$\frac{x}{m}$
3,5	190	463	312	1,2
4,0	143	348	427	1,7
4,5	100	243	532	2,1
5,0	78	190	585	2,3
5,5	80	195	580	2,3
6,0	68	165	610	2,4
7,0	80	195	580	2,3

Calibración

L	435	158
q_L	$885 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$222 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

$\Delta L/\Delta q_L = 0,41$

En cuanto al pH que produce la máxima adsorción, podemos deducir lo siguiente:

1) Para el veneno de *C. terrificus* (curvas *a* y *e*), el óptimo de adsorción se halla en la zona alcalina (pH > 8).

2) Para los venenos de *Bothrops* (curvas *b*, *c*, *d*, *f*), el óptimo de adsorción se halla en la zona débilmente ácida (pH $\cong$ 6).

TABLA V. — *Veneno de Crotalus terrificus.*

(Curva *e* de la Fig. 1.)

Volumen V = 20 *ml* $q = 1100 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$ m = 250 $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

Proteínas: 11.000 $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

pH	L	$q_L \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$x = (q - q_L) \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$\frac{x}{m}$
4,0	120	631	469	1,8
5,0	93	436	664	2,6
6,0	78	410	690	2,7
7,0	75	390	710	2,8
8,0	75	390	710	2,8
8,5	70	368	732	2,9
9,0	75	390	710	2,8
9,5	76	400	700	2,8
10,0	72	376	724	2,9
10,5	130	684	416	1,6
11,0	125	657	443	1,7
12,5	168	888	212	0,8

Calibración

L	205	105	60
q_L	942 $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	421 $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	210 $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

$\Delta L / \Delta q = 0{,}19$

TABLA VI. — *Veneno de Bothrops jararacusú.*

(Curva *f* de la Fig. 1)

Volumen V = 20 *ml* Proteínas: 24.500 $\left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

$q = 2450 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$ $m = 250 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

pH	L	$p_L \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$x = (q - q_L) \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$\frac{x}{m}$
4,0	460	1769	681	2,7
5,0	425	1634	816	3,2
5,5	420	1614	836	3,3
6,0	385	1496	954	3,8
6,5	400	1538	912	3,6
7,0	400	1538	912	3,6
7,5	410	1576	874	3,5
8,0	395	1519	931	3,7
8,5	395	1519	931	3,7
9,0	405	1557	893	3,5

Calibración

L	560	275	140
q_L	$2100 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$1050 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$	$525 \left[\frac{\gamma}{ml}\right]$

$\Delta L / \Delta q_L = 0{,}26$

III. APLICACION INMUNOLOGICA DE VENENOS ADSORBIDOS

Ya dijimos en la *Introducción* que, cuando se inició el estudio de la inmunización con venenos, aparecieron diversos inconvenientes (largo tiempo para obtener un título útil, reacciones locales y generales en los equinos y, a veces, muerte de aquellos animales con respuesta insuficiente). Distintos autores, como vimos (Catán, Boquet, Nicol y Richou, Frazer y Stewart, etc.), demostraron que, adsorbiendo el veneno o emulsionándolo con ciertas substancias, disminuye la letalidad, manteniéndose su poder antigénico. El uso

de anaveneno por RAMÓN y BOQUET fué introducido con el mismo fin, lográndose una inmunización acelerada. Nosotros hemos observado, en el caso de veneno de *B. alternata*, que, incubándolo con formol al 6 °/oo (pH = 7,4) a 37°C durante treinta días, hay una detoxificación equivalente al 93 °/oo (Tabla VII). Además, inyectado a equinos, hemos verificado (Tabla VIII) que el anaveneno da una protección inferior a la del veneno, que es constante, a pesar del aumento de la dosis.

TABLA VII. — *Detoxificación.*

(La dosis letal mínima se determinó en lauchas machos de 18 a 20 gramos, por vía endovenosa) (γ de veneno bruto)

	DLM antes de la incubación	DLM 30 días después de la incubación	Porcentaje de atenuación
Solución de veneno testigo (sin formol).	60 γ	90 γ	34 %
Solución de veneno con formol al 6 °/oo (pH = 7,4)	60 γ	900 γ	93 %

Si bien se podría haber hecho un estudio más exhaustivo de las condiciones de preparación del anaveneno, en vista de la buena tolerancia al veneno adsorbido, nos decidimos a estimar la atenuación de la letalidad del veneno adsorbido en hidróxido de aluminio y su capacidad inmunizante.

1. *Material.* — Hidróxido de aluminio preparado según se indicó en II, 2, a). Venenos desecados obtenidos como dijimos en II, 2, d). Lauchas blancas de 18 a 20 gramos de peso. Caballos adultos.

2. *Técnica.*

a) *Estimación de la disminución de la letalidad:* Se toma veneno desecado y se disuelve en solución de cloruro de sodio al 0,9 % y se centrifuga media hora a 2.000 r.p.m. Se toma cierta cantidad de solución de veneno, se adsorbe sobre gel de hidróxido de aluminio a pH óptimo según el veneno (véase II, 3, a) en una relación de

TABLA VIII. — *Comparación del poder antigénico de veneno y anaveneno de B. alternata.*
(Inmunización de equinos nuevos)

	Semanas												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Caballo N.° 5003. Veneno. Cantidad inyectada.	2 mgr	5	10	20	40	80	150	300	500	750	1000	1200	—
Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno.	0	0	0	0,200 mgr	0,600	0,900	1,200	1,200	1,500	1,500	1,200	1,200	1,200
Caballos N.os 4995 y 4996. Anaveneno. Cantidad inyectada por equino.	2 mgr	5	10	20	40	80	150	300	—	—	—	—	—
Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno.	0	0	0	0,300 mgr	0,300	0,300	0,300	—	—	—	—	—	—
Caballos N.os 4767 y 5005. Veneno. Cant, inyect. por equino,	2 mgr	5	10	20	40	80	150	300	500	750	—	—	—
Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr. de veneno.	0	0	0	0,300 mgr	0,750	1,200	1,200	1,350	1,350	1,400	1,950	—	—

$(OH)_3Al$ a veneno de 2 : 1. Se determina la dosis letal por vía subcutánea en lauchas, a la vez que se hace lo mismo con veneno no adsorbido. Por cada dosis se inyecta tres lauchas.

b) *Estudio del poder inmunizante.*

α) *Preparación del veneno adsorbido.* — Veneno desecado. Se diluye en colución de cloruro de sodio al 0,9 %, mertiolatada (1 : 10.000), a la que se le agrega penicilina (100 unidades por mililitro); y cloramfenicol (0,1 miligramo por mililitro). Se deja a temperatura ambiente durante 24 horas y se centrifuga treinta minutos a 2.000 r.p.m. para eliminar substancias insolubles. Se adiciona hidróxido de aluminio en una relación de $(OH)_3Al$ a veneno que va de 0,5 a 2,5 según el veneno de que se trate y según que los equinos hayan o no hayan sido inmunizados previamante. Luego se lleva, con solución fisiológica mertiolatada, a una concentración de un miligramo de veneno por mililitro. Se ajusta el pH con ácido clorhídrico o con hidróxido de sodio 1 N.

β) *Inmunización.* — Se efectúa en equinos por vía subcutánea en la base del pescuezo. Las sangrías exploratorias se realizan semanalmente de la yugular. Se ha ensayado distintos esquemas de inmunización en caballos nuevos y en caballos ya inmunizados.

γ) *Estimación del nivel de inmunización.* — Para determinar la capacidad protectora del suero frente a los venenos, se mezcla una cantidad constante del suero con múltiplos de la dosis letal para lauchas de 18 a 20 gramos por vía endovenosa. Se incuba la mezcla durante una hora a temperatura ambiente y luego se inyecta a lauchas en la vena caudal.

Para estas pruebas hemos utilizado unas dos mil lauchas, a razón de tres por cada dosis.

3. *Resultados.*

a) *Disminución de la letalidad:* En la Tabla IX se resumen las determinaciones de las dosis mínimas letales por vía subcutánea en lauchas de 18 a 20 gramos, con una observación de los animales

durante cuatro días. Las dosis mínimas letales se expresan en gammas de veneno. Los valores consignados han sido obtenidos de una medición para cada veneno usando tres lauchas por dosis con una variación de 10 % entre una y otra dosis.

TABLA IX. — *Disminución de la letalidad obtenida por adsorción del veneno sobre hidróxido de aluminio.*

Estado del veneno y vía de administración	Veneno de:				
	B. alternata	*B. neuwiedii*	*B. jararaca*	*B. jararacusú*	*C. terrificus*
Soluble Endovenosa	25 γ por laucha	15	25	5	4
Soluble Subcutánea (*a*)	250 γ por laucha	160	910	1400	8
Adsorbido Subcutánea (*b*)	400 γ por laucha	460	1500	2300	20
Relación *b/a*	1,6	2,8	1,6	1,6	2,5

b) *Poder inmunizante:* Anteriormente se efectuaba las inmunizaciones en nuestro Instituto con venenos desecados disueltos en solución fisiológica, centrifugados durante media hora a 3.000 r.p.m. con el objeto de eliminar sustancias insolubles. Las inyecciones a los caballos hacíanse semanalmente por vía subcutánea. Así se obtenían distintos tipos de sueros antiofídicos: suero *anti-Crotalus terrificus, suero bivalente anti-B. allernata y neuwiedii, suero anti-Bothrops alternata, neuwiedii, jararaca, jararacusú* y *Crotalus terrificus* (Suero Misiones), y, finalmente, suero antiofídico polivalente (*B. alternata, B. neuwiedii* y *Crotalus terrificus*).

Estas inmunizaciones necesitaban los tiempos que detallamos a continuación, juntamente con sus resultados.

α) *Suero anti-Crotalus terrificus.* — La preparación de caballos nuevos comenzaba con vacunación antitetánica e inyección de 50 ml de suero anticrotálico y, a la

semana siguiente, se aplicaba el siguiente esquema: 0,1 mgr; 0,15; 0,30; 0,60; 0,80; 1,00; 2,00; 4,00; 6,00; 8,00; 10,00; 15,00; 20,00; 40,00; 60,00; 100,00; 200,00 mgr. Luego, según el título logrado, se daba de dos a cuatro dosis de 200,00 mgr. Como se ve, eran necesarias de 18 a 20 semanas de inmunización. La capacidad protectora del suero preparado de esta manera era de 0,400 mgr de veneno crotálico por mililitro de suero. Las reinmunizaciones se ajustaban al esquema anterior, pero partiendo de 20,00 mgr, abarcando unas ocho semanas. El resultado era igual al ya mencionado.

β) *Suero bivalente anti-Bothrops alternata y neuwiedii.* — La inmunización se hacía con mezclas, por partes iguales, de veneno de *B. alternata* y de *B. neuwiedii.* La inmunización de equinos nuevos, ya vacunados contra el tétanos, comenzaba con una inyección de 50 ml de suero antiofídico bivalente a cada animal. A la semana siguiente aplicábase el siguiente esquema: 4 mgr; 5; 6; 10; 15; 20; 40; 80; 150; 200 mgr. Luego, según el título producido, se administraba de dos a cuatro dosis de 200 mgr. La capacidad protectora de estos sueros se verificaba sólo respecto al veneno de *B. alternata.* Dicha capacidad era de 2,2 mgr de veneno de *B. alternata* por ml de suero. La reinmunización comenzaba con 20 mgr y seguía el esquema dado. Todo esto insumía unas ocho a diez semanas, lográndose un título entre 2 mgr y 2,5 mgr por ml. de capacidad protectora.

γ) *Suero anti-B. alternata, neuwiedii, jararaca, jararacusú y Crotalus terrificus (Suero Misiones).* — La inmunización empezaba con mezclas de venenos de *B. jararaca* y *B. jararacusú* a razón de 0,2 mgr hasta llegar a 30 mgr en las primeras doce semanas. Luego se inmunizaba con veneno de *C. terrificus,* al cual se agregaba veneno de *B. alternata* y *B. neuwiedii.* Finalmente se daba dosis alternas de veneno de *C. terrificus* y venenos de *Bothrops.* La inmunización requería veintitrés semanas. Las sangrías definitivas se hacían a blanco. Los títulos eran, frente a veneno de *Crotalus terrificus,* de 0,400 mgr; y, frente a veneno de *B. alternata,* 2,5 mgr.

δ) *Suero antiofídico polivalente* (*B. alternata*, *B. neuwiedii* y *Crotalus terrificus*). — La inmunización de equinos nuevos se hacía inyectando 50 ml de suero *anti-Crotalus terrificus*. Luego se administraba veneno de *C. terrificus* durante seis semanas, a razón de una dosis semanal (0,3 mgr la primera y 10 mgr la sexta). En la séptima semana se comenzaba a inmunizar con veneno de *B. alternata y B. neuwiedii*, dando un miligramo de la mezcla de venenos. Desde ese momento, inyectábase, en forma creciente, dos veces por semana, hasta llegar a 200 mgr de veneno de *C. terrificus* y 200 mgr de la mezcla de venenos de *B. alternata* y *B. neuwiedii*. Esta inmunización necesitaba de 17 a 19 semanas. La reinmunización obteníase con dos dosis por semana a partir de 20 mgr para *B. alternata* y *B. neuwiedii*. Se incrementaba las dosis hasta alcanzar 200 mgr de la mezcla de venenos de *B. alternata* y *B. neuwiedii*. Se tardaba en realizar todo esto entre 9 a 12 semanas. La capacidad protectora era, frente a *C. terrificus*, de 0,300 mgr por ml de suero, y frente a *B. alternata*, de 2 mgr por ml de suero.

Como ya dijimos en la *Introducción*, nuestro propósito ha sido el de disminuir los tiempos de inmunización, atenuar las reacciones locales y generales del animal y obtener sueros de mayores títulos. Por otra parte, perseguíamos el propósito de poder efectuar reinmunizaciones más frecuentes. Con los esquemas que acabamos de describir, dado el tiempo insumido y el estado en que quedaban los caballos, no era posible inmunizar más de dos veces por año. Para el logro de dichas mejoras, pensamos en inyectar dosis de antígeno que fueran seguramente suficientes, con el objeto de que, una vez obtenido un esquema seguro de inmunización útil, resultase factible tentar la disminución de la cantidad de veneno inyectado. Con este criterio han sido llevadas a cabo las experiencias consignadas en las Tablas X, XI, XII, XIII, XIV, XV y XVI.

Tabla X. — *Reinmunización antiofídica bivalente. Mezcla por partes iguales de venenos de B. alternata y B. neuwiedii adsorbidos en hidróxido de aluminio*

1	Número de equinos: 18 Miligramos de mezcla de venenos por semana y por animal	30	100	300	800	—
	Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno medida frente a veneno de *B. alternata*	1,000	1,250	1,750	2,250	2,900
2	Número de equinos: 9 Miligramos de mezcla de venenos por semana y por animal	500	800	—	—	—
	Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno medida frente a veneno de *B. alternata*	0,625	1,000	1,870	—	—
3	Número de equinos: 30 Miligramos de mezcla de venenos por semana y por animal.....	100	150	300	600	—
	Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno medida frente a:					
	B. alternata	1,250	1,750	2,125	2,250	2,750
	B. neuwiedii	1,200	1,350	1,875	1,950	2,250

TABLA XI. — *Reinmunización trivalente. Mezcla de venenos por partes iguales de B. alternata, B. neuwiedii y B. jararaca adsorbidos en hidróxido de aluminio.*

Número de equinos: 7 Miligramos de mezcla de venenos por semana y por animal	100	150	300	400	200 (venenos solubles)	—
Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno medida frente a:						
B. alternata	0,750	1,152	—	1,375	1,500	1,750
B. neuwiedii	0,450	0,750	—	1,500	1,875	1,875
B. jararaca	0,450	1,250	—	2,625	3,000	3,375

TABLA XII. — *Reinmunización antiofídica polivalente. (B. alternata, B. neuwiedii, Crotalus terrificus). (Venenos adsorbidos)*

Número de equinos: 20 Miligramos de mezcla de venenos por semana y por animal	10	20	40	80	150	300	400	500	—
Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno medida frente a:									
B. alternata	1,200	—	—	—	—	1,200	—	1,500	1,500
C. terrificus	0,075	—	—	—	—	0,200	—	0,440	0,600

TABLA XIII. — *Reinmunización antiofídica polivalente. (B. alternata, B. neuwiedii, Crotalus terrificus).* *(Venenos adsorbidos)*

Número de equinos: 4 Miligramos de mezcla de venenos por semana y por animal	5	10	50	100	200	200 (*B. alternata y B. newiedii*)	200 (*C. terrificus*)	—
Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno medida frente a:								
B. alternata	0,600	—	0,750	0,750	—	—	—	1,500
C. terrificus	0,050	—	0,100	0,300	—	—	—	0,450

TABLA XIV. — *Reinmunización antiofídica polivalente. (B. alternata, B. neuwiedii, Crotalus terrificus)* *(Venenos adsorbidos)*

Número de equinos: 6 Miligramos de mezcla de venenos por semana y por animal	40	*B. alt. y B. neuw.* 100 (Lunes)	*Crotalus* 100 (Jueves)	*B. alt. y B. neuw.* 200 (Lunes)	*Crotalus* 200 (Jueves)	*B. alt. y B. neuw.* 400 (Lunes)	*Crotalus* 400 (Jueves)	
Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno medida frente a:								
B. alt.	0,500	—		0,750		0,750		1,000
C. terrificus	0,100	—		0,300		0,450		0,500

Tabla XV. — *Reinmunización antiofídica polivalente.* (*B. alternata, B. neuwiedii, Crotalus terrificus*)
(*Venenos adsorbidos*)

Número de equinos: 8 Miligramos de mezcla de venenos por semana y por animal	*B. alt. y B. neuw.* 300 (Lunes)	*Crotalus* 300 (Jueves)	*B. alt. y B. neuw.* 500 (Lunes)	*Crotalus* 500 (Jueves)	—
Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno medida frente a:					
B. alt.	0,625		1,000		1,250
C. terrificus	0,125		0,200		0,450

Tabla XVI. — *Reinmunización antiofídica monocrotálica con veneno adsorbido en hidróxido de aluminio.*

1	Número de equinos: 8 Miligramos de veneno por semana y por animal	100	200	300	400	500	—	—
	Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno de *C. terrificus*	0,100	0,100	0,200	0,240	0,280	0,300	—
2	Número de equinos: 10 Miligramos de veneno por semana y por animal	5	10	20	40	60	80	120
	Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno de *C. terrificus*	0,040	—	—	—	—	0,320	0,400
3	Número de equinos: 15 Miligramos de veneno por semana y por animal	100	150	300	400	500	—	—
	Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno de *C. terrificus*	0,050	0,175	0,200	0,350	0,400	0,500	—

TABLA XVII. — *Inmunización anti-B. alternata*
(Equinos nuevos, veneno adsorbido en hidróxido de aluminio)

Número de equinos: 3									
Miligramos de veneno por semana y por animal	2	5	10	20	40	80	150	330	—
Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr. de veneno de *B. alternata*	—	—	—	—	—	—	—	—	1,5

TABLA XVIII. — *Inmunización anti-B. neuwiedii*
(Equinos nuevos, veneno adsorbido en hidróxido de aluminio)

Número de equinos: 2									
Miligramos de veneno por semana y por animal	2	5	10	20	40	80	150	300	—
Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr de veneno de *B. neuwiedii*	—	—	—	—	—	—	—	—	1,8

TABLA XIX. — *Inmunización anti-Crotalus terrificus*
(Equinos nuevos, veneno adsorbido en hidróxido de aluminio)

Número de equinos: 8									
Miligramos de veneno por semana y por animal	2	5	10	20	40	80	150	300	—
Capacidad protectora por ml de suero expresada en mgr. de veneno de *C. terrificus*	—	—	—	—	—	—	—	—	0,400

IV. DISCUSION

Como emerge del estudio (II, 4) de la influencia del pH sobre la adsorción, ésta se produce óptimamente entre pH = 5 y pH = 6 para los venenos de *Bothrops*, y, para el veneno de *C. terrificus*, por arriba de pH = 8. Estas son las zonas de pH usadas en la inmunización. El mayor valor de pH para el veneno de *C. terrificus* se debería a la presencia de una proteína alcalina (crotamina) (Gonçalves y Viera, 1950). Luego, a los fines de la inmunización animal, se eligió un pH intermedio (de 7,0 a 7,5), con el objeto de no favorecer la acción de las proteínas ácidas ni de la proteína alcalina.

La explicación de este efecto se funda en el valor del punto isoeléctrico de las proteínas y del hidróxido de aluminio y en el desprendimiento de iones *H* y *OH* (Alexander, 1928; Sherwood, 1951) según el pH del medio.

En cuanto a la disminución de la letalidad (III, a), hemos encontrado, como era de esperar por los antecedentes citados, en las determinaciones en lauchas (Tabla IX), una disminución de la letalidad por influencia de la adsorción, que es de 1,6 a 2,8 veces respecto al veneno soluble inyectado por la misma vía. Estos datos nos permitieron trabajar con mayor margen de seguridad al practicar la inmunización equina.

Si se compara (III, 3, b) la experiencia que nos han brindado las inmunizaciones con venenos solubles que se realizaban anteriormente en el Instituto y las inmunizaciones con venenos absorbidos (Tablas X a XIX), se destaca en forma muy definida, el acortamiento de los tiempos de inmunización, la menor importancia de las reacciones locales y la menor mortalidad de los caballos, a pesar de que, en general, el incremento de las dosis fué mucho más acelerado que en el caso de los venenos solubles y se llegó a inyectar cantidades de veneno muy superiores. Esto impedía, como es natural, preparar equinos de control con veneno soluble.

Además, la capacidad protectora de los sueros preparados con veneno adsorbido alcanzó valores mayores.

Referencias Bibliográficas

Aleixandre, V. — 1950: Fundamentos teóricos de la adsorción gaseosa. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Monografías de Ciencia Moderna. Madrid.

Alexander, J. — 1928: Colloid Chemistry, theorical and applied. The Chemical Catalog Company, New York.

ARTHUS, M. — 1930: Los anavenenos. Destrucción de la toxicidad de los venenos por el formol. *Journal de Physiologie et Pathologie Générale*, **28**, p. 529.
BOQUET, A. — 1928: Sobre la adsorción de veneno de cobra y de la toxina diftérica por el carbón. *C. R. de l'Ac. des Sc. de París*, **187**, p. 959.
BOQUET, P. — 1948: Venins de serpents et antivenins. *Publ. de l'Institut Pasteur de Paris.*
CALMETTE, A. — 1907: Les Venins. Masson et Cie., París.
CASSIDY, H. G. — 1951: Adsorption and Chromatography, en *Technique of Organic Chemistry* de A. Weissberger, vol. V. Interscience Publishers, New York. London.
CATAN, M. A. — 1921: Adsorción del veneno de cobra por el carbón. *C. R. de la Soc. de Biol., Paris*, **84**, p. 168.
FRAZER, A. C., y STEWART, H. C. — 1940: Inactivación de veneno de cobra por emulsión finamente dispersa. *Brit. Jour. of Exp. Pathology*, **21**, p. 361.
GLASSTONE, S. — 1952: Elementos de Físicoquímica. Editorial Médico-Quirúrgica, Buenos Aires.
GLENNY, A. T. y SÜDMERSEN, H. J. — 1921: Notas sobre la producción de inmunidad a la toxina diftérica. *Jour. Hyg. Cambridge*, **20**, p. 176.
GONÇALVES, J. M. y VIERA, L. G. — 1950: Estudios sobre venenos de serpientes brasileñas. *Anais da Ac. Bras. de Ciencias* (Rio de Janeiro), **22**, N.° 1, Marzo.
GRASSET, E. — 1955: Métodos de ensayo y normalización de antivenenos. *Bull. of the World Health Organization.* Septiembre.
IOVINE, E., GAYA NOYA, E. R. y VILLA, J. C. — 1957: Técnicas analíticas fotocolorimétricas, espectrofotométricas y fluorométricas aplicadas a la Biología Clínica. Ed. Beta. Buenos Aires.
LANGMUIR, I. — 1918: La adsorción de gases sobre superficies planas de vidrio, mica y platino. *The Journal of the American Chemical Society*, **40**, julio-diciembre, p. 1361-1403.
LÖWENSTEIN, E. — 1909: Sobre la vacunación protectora activa en el tétanos con toxoide. *Zeitschrift für Hygiene*, **62**, p. 491.
MANCUSO, C. — 1951: Preparación de hidróxido de aluminio para vacuna antiaftosa. *Boletín da Diretoria de Produção Anual*, **7**, junio, N.° 13.
NICOL, L. y RICHOU, R. — 1935: Toxicidad para el cobayo del veneno de *Vipera aspis* mezclada con lanolina. *C. R. de la Soc. Biol.*, **118**, p. 942.
Organisation Mondiale de la Santé, 1953: Rapports Techniques, N.° 61, octubre, p. 68.
RAMÓN, G. — 1923: Sobre el poder floculante y sobre las propiedades inmunizantes de una toxina diftérica transformada en anatoxina. *C. R. de l'Ac. des Sc. de París*, **177**, p. 1338.
RAMÓN, G. — 1924: Anatoxinas. *C. R. de l'Ac. de Sc. de Paris*, **178**, p. 1436.
RAMÓN, G. — 1925: Sobre la producción de antitoxinas. *C. R. de l'Ac. des Sc. de Paris*, **181**, p. 157.
RAMÓN, G., BOQUET, P. y NICOL, L. — 1940: Sobre la producción acelerada de suero antivenenoso por medio del anaveneno en el caballo. *C. R. de l'Ac. des Sc. de Paris*, **211**, p. 236.
SHERWOOD, N. P. — 1951: Immunology. The C. V. Mosby Company, St. Louis.
VON EISLER, M. y LÖWENSTEIN, E. — 1912: Sobre la acción de la formalina en la toxina tetánica. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 1 (61), p. 271.

BIBLIOGRAFIA

Francis Halbwachs. — *Theorie relativiste des fluis a spin.* 294 págs. Gauthier-Villars, Paris, 1960.

El autor ha hecho un esfuerzo para constituir un formulismo conveniente a la descripción clásica de los fluídos, para sus aplicaciones a la mecánica ondulatoria.

Se considera los fluídos como constituídos de corpúsculos giratorios por las interacciones y es al estudio de la dinámica clásica de corpúsculos relativamente remolinos que se ha consagrado el primer motivo de la obra.

El autor ha resumido las teorías anteriores de corpúsculos giratorios por estudiar más en detalle la teoría, más general de la gota fluída relativa.

Dentro de la hidrodinámica se empieza por proponer que todo campo clásico es rígido por un principio de variación. La representación hidrodinámica del campo relativista en general comprende una densidad de impulsión a la corriente, una densidad de giración, y la densidad de palurdo, las tensiones internas, y una "corriente de calor".

La interpretación física del experimento está justificado por tener la teoría corpuscular desarrollada dentro de la primera parte.

En el último capítulo de la edificación de fluídos constituídos por los corpúsculos estudiados en la primera parte.

La obra expone de una manera completa y didáctica posible, los elementos necesarios para comprender y proseguir las investigaciones dentro del dominio general de los corpúsculos giratorios y los fluídos, como sus aplicaciones a la interpretación causal de la mecánica ondulatoria, y por otra parte, el autor insiste de un modo muy apropiado por las direcciones que tiene actualmente el objeto de investigación activa, notablemente por la teoría nueva unitaria de partículas elementarias.

Hay un índice y una tabla de la materia.

El libro sería de ayuda para los que se interesan por el estudio de la materia.

G. Hoxmark

Hugh Taylor. — *Science in progres* (Eleventh Series). 379 págs., 115 figs. New Haven, Yale University Press. 1960.

La obra que es la undécima de la serie, no ofrece una cantidad de ensayos de eminentes hombres de ciencia sobre diversos aspectos del desarrollo de las ciencias en los últimos tiempos.

He aquí la lista de los trece trabajos que nos hará ver los más recientes descubrimientos de las ciencias.

La causa de la construcción de las montañas, que es la primera, es interesante y nos presenta con una explicación bastante verosímil el Señor Armand J. Eardly. Es ilustrada por 17 figs.

R. J. Russell explica como el nivel del mar ha crecido y está creciendo por el derretimiento de los glaciales.

Diversas teorías con respecto a la constitución y el crecimiento de las tierras constituye el tema del trabajo del Sr. J. Tuzo Wilson.

La radiación cósmica es el tema del artículo de S. A. Korff, él que ha reseñado el mecanismo operativo para producirlo, y las interesantes implicaciones astrofísicas sugeridas por su presencia.

El comienzo de la radio astronomía es tratada por C. M. Jansky, Jr., y el desarrollo de la misma por G. S. Hawkins, en una forma más explícita, ampliamente ilustrada.

La hipótesis de control biológico de los factores químicos en el ambiente, ha sido presentado en una forma fácil de entender por A. C. Redfield de la "Woods Hole Oceanographic Institution".

B. F. Skinner, del Harvard University, trata del análisis experimental del proceder.

Una teoría referente a la antropología química ha sido explicada por R. J. Williams.

E. Cuyler Hammand del "American Cancer Society, Inc.", trata de la cuestión tan importante como la influencia de fumar sobre la estadística de defunciones. Según las tablas estadísticas, hay más probabilidades para una larga vida a los que no fumen. Es un hecho confirmado que hay muchos factores de las más diversas naturalezas asociados con la ocurrencia del cáncer. En general se ha comprobado que viene de una irritación crónica.

J. W. Beard ha tratado la cuestión en otra forma, desde el punto de vista de los virus, que según él son la causa del cáncer.

J. Turkevich ha estudiado el mundo de partículas finas, del tamaño de pequeñas moléculas, hasta la de polvos y de arena. Los ha estudiado por medio del electrón microscopio, y lo ha ilustrado con fotografías. Es notable la nitidez con que se ve la construcción en la magnificación de 166.667 veces.

La obra termina con un artículo de A. C. Zettlemoyer sobre la "Interacción Molecular con las superficies de sólidos".

El libro se halla ilustrado por 115 figs., y además hay referencias (355-371) y un índice (374-379).

Por los muchos temas constituye una lectura interesante para los estudiosos.

G. Hoxmark

De Fina, A. L., F. Giannetto y L. J. Sabella. 1961. — *Difusión geográfica de cultivos índices en la provincia de San Luis y sus causas.* Publicación N° 72 del Instituto de Suelos y Agrotecnia (I.N.T.A.); 77 págs., 20 mapas, 3 cuadros, 1 gráfico. Buenos Aires.

Esta es una nueva entrega de la serie iniciada, en 1948, por el Instituto de Suelos y Agrotecnia, bajo el título general de *Difusión geográfica de cultivos índices en la provincia de San Luis y sus causas.* Ya han aparecido las entregas que ab

can las trece provincias siguientes: Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Chaco, Santa Fe, Santiago del Estero, La Rioja, Jujuy, Salta, Tucumán, La Pampa y Catamarca. Actualmente está en preparación la de San Juan.

Como en todas las restantes, en la entrega del epígrafe se analiza la difusión geográfica y el comportamiento, sobre el territorio de la provincia de San Luis, de los dieciocho cultivos índices que usa el Instituto de Suelos y Agrotecnia en sus reconocimientos agroecológicos, a saber: cacao, ananás, banano, limonero, datilera, olivo, higuera, vid europea, nogal, duraznero, peral, manzano; algodón, sandía, maíz, trigo, avena y cebada.

Para cada uno de los cultivos y sobre la base de las 93 localidades reconocidas, la publicación, aquí reseñada, da el mapa respectivo, lo que hace un total de dieciocho mapas.

El mapa N° 19 muestra los distritos agroclimáticos delimitados en la provincia de San Luis, que en total son diecisiete; número bastante elevado, si se considera el área relativamente pequeña de esta provincia.

Con el fin de lograr una adecuada delimitación de los distritos, los autores procedieron a recopilar, calcular o estimar los datos termopluviométricos y, asimismo, los de altura sobre el nivel del mar, de 158 localidades de la provincia; información numérica que se halla contenida en el Cuadro II y que contribuye a colmar, en parte, una gran laguna de la bibliografía climatográfica de la provincia de San Luis. En efecto, hay muy pocos valores climáticos, sintéticos, publicados acerca de esta provincia cuyana, particularmente en su sector norte, serrano.

El Cuadro III configura la parte de orientación más práctica del estudio, pues en él se consigna una lista de 157 cultivos posibles en la provincia de San Luis, con la indicación de los distritos agroclimáticos para los cuales hay testimonios más seguro, acerca de la viabilidad de los mismos.

Un conjunto tan numeroso de cultivos posibles, en la provincia bajo estudio, en buena parte es la consecuencia de la apreciable variedad de climas que posee la misma (17 distritos agroclimáticos), a su vez, como resultado, principalmente, de la diversa altitud de la superficie del suelo y del relieve algo complicado de San Luis.

Dentro de los 157 cultivos no van incluidas las plantas puramente ornamentales. Para facilitar la consulta del Cuadro III, los cultivos fueron agrupados en las seis categorías siguientes: a) cereales, b) forestales, c) forrajeras, d) frutales, e) hortalizas y f) industriales y otras.

La publicación, aquí reseñada, puede ser obtenida, en forma gratuita, por correo o personalmente, dirigiéndose al Instituto de Suelos y Agrotecnia, sito en la calle Cerviño 3101, Buenos Aires, República Argentina.

A. L. D. F.


MYB
M. R.

PETROLEO Y SIDERURGIA...

...forjando el

progreso argentino



La grandeza de la industria siderúrgica argentina sólo podrá cimentarse con la explotación intensiva de las materias primas con que cuenta nuestro país.

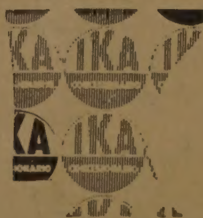
La explotación de los yacimientos de hierro de Sierra Grande, similarmente al caso del petróleo, significará para la Argentina una notable economía en divisas.

Por eso es dable afirmar que
Petróleo y Siderurgia
están forjando la grandeza del país.

YACIMIENTOS PETROLIFEROS FISCALES



EN TODAS LAS RUTAS DEL PAIS!



El sello del Concesionario oficial de IKA, le señala en todas las rutas del país el lugar donde usted encontrará legítimos repuestos IKA, personal altamente especializado, servicio nocturno único en el mundo... y la habitual "cordialidad IKA"! En más de 260 puntos de la República, el sello "IKA-CONCESIONARIO" es el orgulloso emblema de la "red de seguridad" para la protección de su vehículo IKA... durante las 24 horas del día!



INDUSTRIAS KAISER ARGENTINA

Sobre la red caminera... una "red de seguridad"

SOCIEDAD CIENTIFICA ARGENTINA
FUNDADA EN 1872

Av. SANTA FE 1145 T. E. 41 - 1406

BECA "Ing. TORCUATO DI TELLA"

CONCURSO AÑO 1961

La Sociedad Científica Argentina llama a concurso a fin de adjudicar una beca extraordinaria para el fomento de la investigación técnico-científica vinculada a la ingeniería y especialmente temas relacionados con electromecánica y metalurgia.

Los candidatos deben cumplir extrictamente las condiciones establecidas en el Reglamento de la Beca vigente que exige: ser ciudadano argentino menor de 40 años, haber realizado estudios completos técnicos o universitarios en el país, tener el diploma o título de graduación correspondiente y no menos de 3 años de egresado.

La beca consiste en un estipendio de m$n. 15.000.-- mensuales durante diez meses contados a partir del 1° de julio de 1961.

El formulario de solicitud y Reglamento de la Beca deberán retirarse de la Secretaría de la Sociedad Científica Argentina, de 15 a 19 horas, de lunes a viernes.

Los solicitantes presentarán la documentación requerida antes de las 18 horas del día 30 de junio de 1961.